Caldasia 22 (2): 327-335

CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA DEL TINAJO O BORUGO *AGOUTI TACZANOWSKII* DE COLOMBIA

Olga María Torres

Instituto de Genética, Universidad Nacional de Colombia, Apartado 14490, Bogotá, Colombia.

José Joaquín Castro

Departamento de Biología, Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Bogotá, Colombia.

RESUMEN

Este trabajo presenta los cariotipos G, R y C del tinajo o borugo *A. taczanowskii* que habita en los Andes de Colombia. *A. taczanowskii* posee 78 cromosomas, con una cantidad relativamente grande de heterocromatina constitutiva y un notable polimorfismo de bandas C, que permitió la identificación individual de los animales estudiados. Los resultados encontrados constituyen un punto de referencia importante para la taxonomía del género *Agouti*.

Palabras clave: *Agouti taczanowskii,* Borugo, Cariotipo, Citotaxonomía, Tinajo

ABSTRACT

We describe the cytogenetics of the mountain paca, *A. taczanowskii,* which inhabits the mountains of Colombia. It was established that *A. taczanowskii* has a diploid number of 78 chromosomes with fairly large amounts of constitutive heterochromatin and remarkable C-band polymorphism. These results permit the differentiation of individuals and may shed light on the family status of the genus *Agouti*.

Key words: *Agouti taczanowskii,* Cytotaxonomy, Karyotype, Mountain paca

INTRODUCCIÓN

Desde hace poco más de dos décadas, la sistemática ha incorporado datos citogenéticos en la llamada citosistemática o cariosistemática; en este contexto, los roedores han sido ampliamente estudiados y en algunos grupos los cariotipos han contribuido a aclarar problemas relacionados con la clasificación, como en el caso de los múridos (Yosida & Sagai 1973, Contrafatto et al. 1992) y los cricétidos (Bradshaw & Hsu 1972, Pathak et al. 1973, Baker et al. 1983, Aguilera et al. 1995) para citar tan sólo unos ejemplos.

El tinajo o borugo *A. taczanowskii* (Stolzmann 1865), junto con *A. paca* (Linnaeus 1766) constituyen el género *Agouti* (Lacépède 1799), considerado por algunos autores como único género de la familia *Agoutidae* (Woods 1993). *A. taczanowskii* es una especie considerada en peligro de extinción y aún no se conoce su cariotipo, excepto por un trabajo donde se registra un número diploide de 42 (Gardner 1971), basado en el estudio cromosómico sin bandas, de un ejemplar colectado en la cordillera Carpish (2.400 m) del Perú y la información de un número diploide de 78 cromosomas para un tinajo colom biano de procedencia desconocida (Torres & Enciso, datos no publ.). Este trabajo presenta los cariotipos G y R del tinajo caracterizados con las técnicas de bandas GTG, G11 y RBHG y el polimorfismo cromosómico CBG, basado en el estudio de 13 ejemplares. Los resultados encontrados muestran variabilidad inter-individual, con relación a la heterocromatina constitutiva, la cual permite distinguir a cada uno de los especímenes examinados, además los patrones de bandas Q, R y G constituyen un punto de referencia importante para la identificación específica del tinajo y podrían aclartar dudas si hay un problema taxonómico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales. Se tomaron muestras de sangre de 14 tinajos colombianos relacionados en la tabla 1. A excepción de 2, los tinajos procedían de una colonia establecida y mantenida por el profesor J.J.Castro en La Calera (Cundinamarca). De los animales que murieron durante el transcurso de la investigación, se preservaron los cráneos y se encuentran en la colección de mamíferos del Instituto de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional.

Citogenética. El estudio citogenético se realizó sobre cromosomas metafásicos obtenidos a partir de cultivos de linfocitos de sangre periférica, según la técnica de Hungerford (1960) modificada para estos especímenes. Para cada animal se sembraron dos cultivos, uno de ellos con tratamiento final de Bromo-deoxiuridina (50 ug/ml) durante las últimas siete horas. Se utilizó medio de cultivo RPMI 1640 con suero bovino fetal al 20%, se usó como mitógeno, favina [extracto crudo derivado del haba, *Vicia fava*, preparado por C. Murillo] a

Tabla 1. Animales estudiados de *A. taczanowskii.*

	Código[a]	Sexo	Procedencia	Nombre[b]	Edad aprox.	Condición actual[c]	Craneo[d]
A. taczanowskii							
1	A002	Macho	Boyacá	Alvino	5 años	m	ICN 15137
2	A003	Macho	F1	No. 1		v	
3	A006	Macho	F1	"orejas roídas"	4 años	m	ICN 15138
4	A007	Macho	F1	No. 4	1,5 años	v	
5	A008	Macho	Boyacá, decomisado en Chiquinquirá			v	
6	A010	Hembra	F2	Angy	5 años	v	
7	A011	Macho	F1	"Palillo"		m	ICN 15139
8	A013	Macho	F2	Ismael	1,5 años	v	
9	A014	Hembra	Páramo de Guasca	Silvia	1,5 años	m	ICN 15140
10	A015	Hembra	Chingaza	Jane	10 años	v	
11	A021	Hembra	F2	Daniela	1 año	v	
12	A030	Hembra	F3 (Abuela del Páramo Chingaza)	Beth	8 meses	m	ICN 15141
13	A028	Hembra	Instituto Nacional de Salud INS	La Mocha		v	
14	A029	Hembra	Instituto Nacional de Salud INS	Fortuna		v	

[a] Número de identificación usado en los cultivos

[b] Identificación del animal

[c] v : vivo m: muerto

[d] Cráneo preservado. Número de colección Instituto de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Colombia (Bogotá).

una concentración de 25 ug por cada 0.1 ml de sangre. Los cultivos se incubaron a 36.5°C durante 64 y 68 horas y cosecharon previa adición de colchicina (0.16 ug/ml) durante los últimos 20 minutos de cultivo. Los extendidos cromosómicos obtenidos de la cosecha de los cultivos, se secaron al aire y procesaron para la identificación cromosómica, siguiendo las técnicas de bandas sobre metafases previamente identificadas con bandas Q, secuencialmente en pares así: (Q - R), (Q - G) y (Q - C), también se aplicaron las técnicas R, G y C sin identificación previa. Se siguieron las técnicas descritas con pequeños ajustes para los cromosomas de estos animales: QFQ (Caspersson et al. 1970), GTG (Seabrigh 1971), G11 (Wyandt et al. 1976), RBHG (Goto et al. 1975, Camargo & Cervenka 1982) y CBG (Arrighi & Hsu 1971, Sumner 1972).

Se examinaron al microscopio entre 10 y 20 metafases de cada uno de los animales estudiados y en cada una de las coloraciones aplicadas. Se fotografiaron cinco a diez metafases dobles (Q-R), (Q-G) y (Q-C). Se prepararon cariotipos dobles a partir de la misma metafase para todas las bandas empleadas y también cariotipos simples de bandas R, G y C para cada uno de los animales estudiados. Las bandas G se observaron con dos técnicas distintas: GTG y G11, las primeras obtenidas con tripsina y coloreadas con Giemsa y las G11 luego de colorear con Azur - Eosina a un pH de 11.

Los cariotipos se organizaron tomando en consideración 1) la morfología cromosómica, según la posición del centrómero; 2) la naturaleza heterocromática de los brazos, de acuerdo con su respuesta a las bandas C; 3) el tamaño relativo y 4) el patrón de bandas. Combinando los dos primeros criterios, los cromosomas se clasificaron en dos grupos y en cada grupo se siguió un orden decreciente de tamaño y patrón de bandas cuando aquél fue similar.

RESULTADOS

A excepción de uno, todos los especímenes estudiados presentaron un número diploide de 78 cromosomas correspondientes a 38 pares de autosomas, algunos de ellos heteromórficos y los cromosomas sexuales XX en la hembras y XY en los machos. Un macho procedente de Boyacá, presentó un número diploide de 77 cromosomas, como resultado de una translocación robertsoniana en estado heterocigoto, que involucra los cromosomas 8 y 29.

Los cariotipos se organizaron separando los cromosomas en los siguientes 2 grupos, de acuerdo a los criterios mencionados:

Grupo 1. Metacéntricos y submetacéntricos, sin brazos totalmente heterocromáticos.- Constituido por 2 pares de autosomas y el par de cromosomas sexuales. El cromosoma X es metacéntrico y el cromosoma Y submetacéntrico.

Grupo 2. Acrocéntricos, telocéntricos y otros con el brazo corto totalmente heterocromático.- Formado por 36 pares de cromosomas, incluidos uno o dos pares heteromórficos en los cuales uno de los homólogos es metacéntrico, con uno de sus brazos (p, por definición) completamente heterocromático (es decir, presentó coloración positiva luego de la aplicación de la técnica de bandas C).

Bandas G. En términos generales las bandas GTG revelaron un patrón correspondiente al patrón de bandas Q (QFQ) e inverso al patrón de bandas R, como es lo usual. Esta técnica permite la identificación de la gran mayoría de los cromosomas, pero se observan varios pares muy similares.

Con la técnica G11, se observó un patrón de bandeamiento correspondiente al patrón de bandas GTG, a diferencia de lo que se observa en los cromosomas humanos, los cuales con la técnica G11 destacan solamente una fracción de la heterocromatina constitutiva (BC).

En la Figura 1 se presenta un cariotipo compuesto de bandas G, en el cual cada par cromosómico muestra la identificación GTG a la izquierda y G11 a la derecha. Se puede apreciar la correspondencia total entre los patrones de bandas obtenidos con las dos técnicas de identificación, aunque también es evidente que las bandas GTG son más definidas,

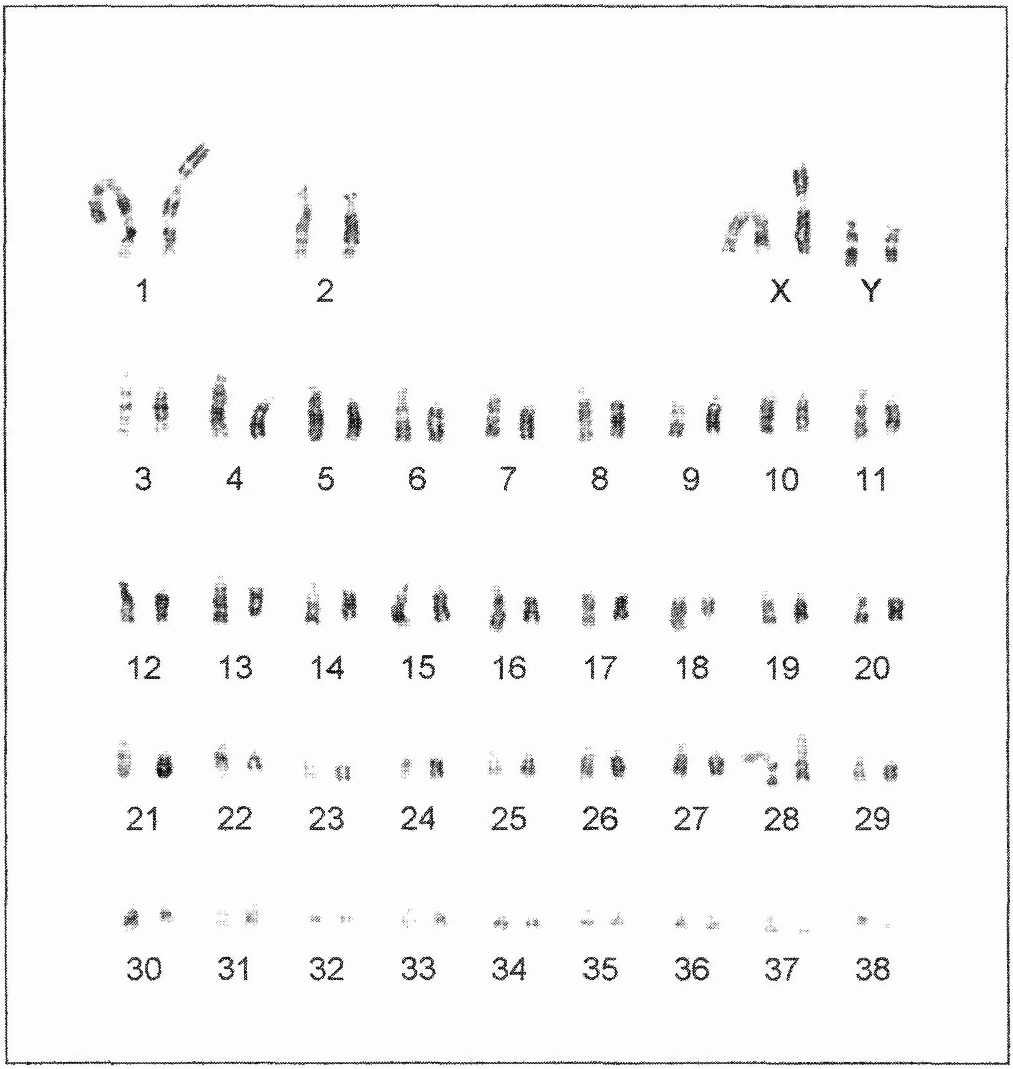

Figura 1. Representación de un cariotipo compuesto de bandas G correspondiente a un macho de *A. taczanowskii*. El cromosoma de la izquierda fue identificado con bandas GTG y el de la derecha con la técnica G11. Nótese la similitud de los patrones de bandeamiento.

particularmente para algunos pares cromosómicos (3, 6, 9, 12, etc.)

Bandas R de replicación (RBTHG). Las bandas R de replicación tardía coloreadas con Giemsa, a grosso modo, son el reverso de las bandas G. Presentan una variabilidad amplia de célula a célula, con relación al grado de BrdU-sustitución, ocasionalmente se observan disparidades entre cromosomas homólogos, interpretadas como visibles consecuencias de la asincronía, sin embargo los patrones de bandas R de replicación en el estado III (Camargo & Cervenca 1982) fueron definidos y precisos facilitando la identificación cromosómica. En la Figura 2 se ilustra el cariotipo con bandas R de replicación

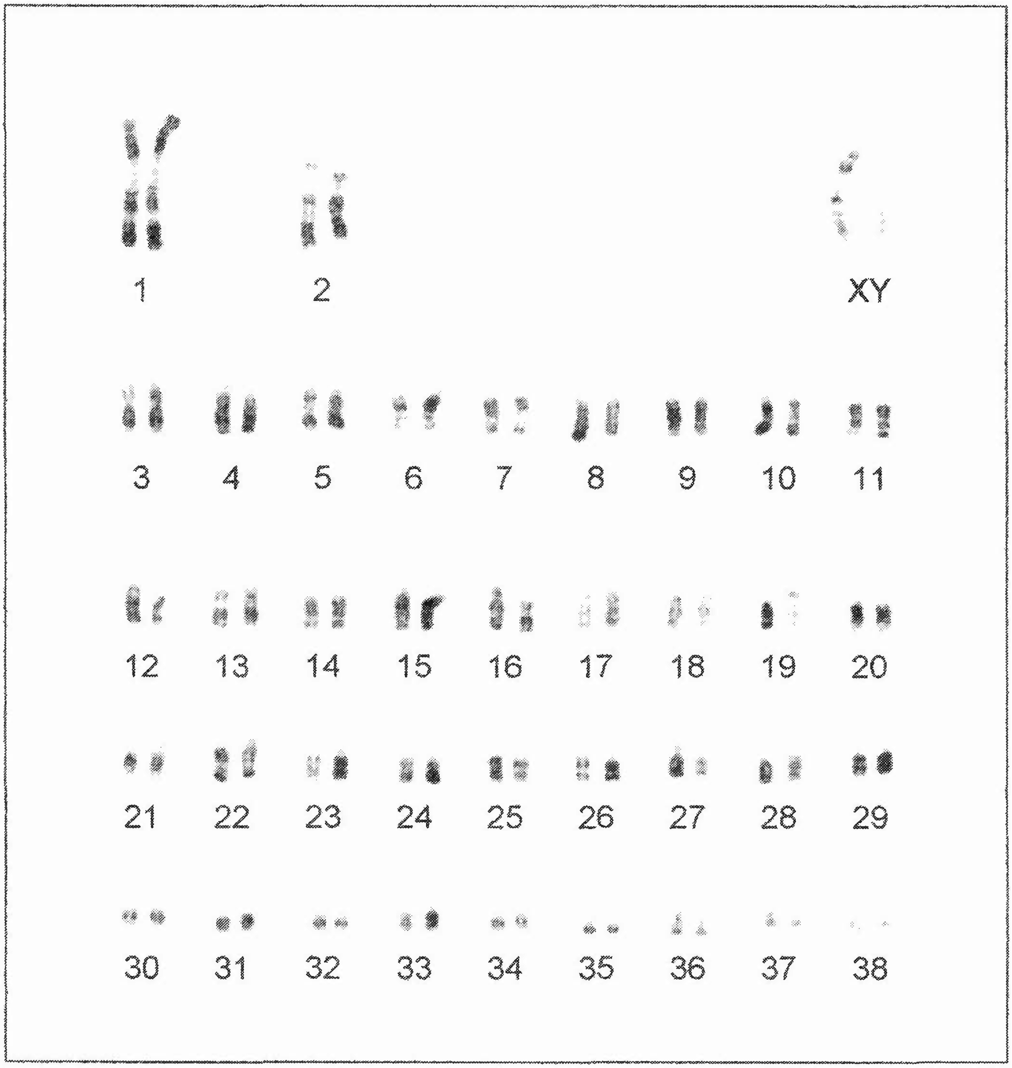

Figura 2. Cariotipo identificado con bandas R de replicación de un macho de *A. taczanowskii*.

Bandas C (CBG). La heterocromatina constitutiva (definida por las bandas C) es abundante y muestra variabilidad inter-individual en *A. taczanowskii* (Figuras 3 y 4). Las bandas C se ubicaron en las regiones pericentroméricas de todos los cromosomas del complemento y adicionalmente en posición intercalar en los cromosomas 1 y 3 y sub-terminal en dos a cuatro pares de acrocéntricos pequeños (29, 30, 33 y 34). Los cromosomas 14 y 28 presentaron un brazo completamente teñido (brazo corto por definición) y el cromosoma Y se observó con el brazo largo totalmente teñido.

Se observó heteromorfismo con relación al tamaño de la banda C en todos los cromosomas, pero nueve pares cromosómicos muestran el heteromorfismo más destacado, a saber : 1, 3, 14, 19, 26, 28, 30, 32 y

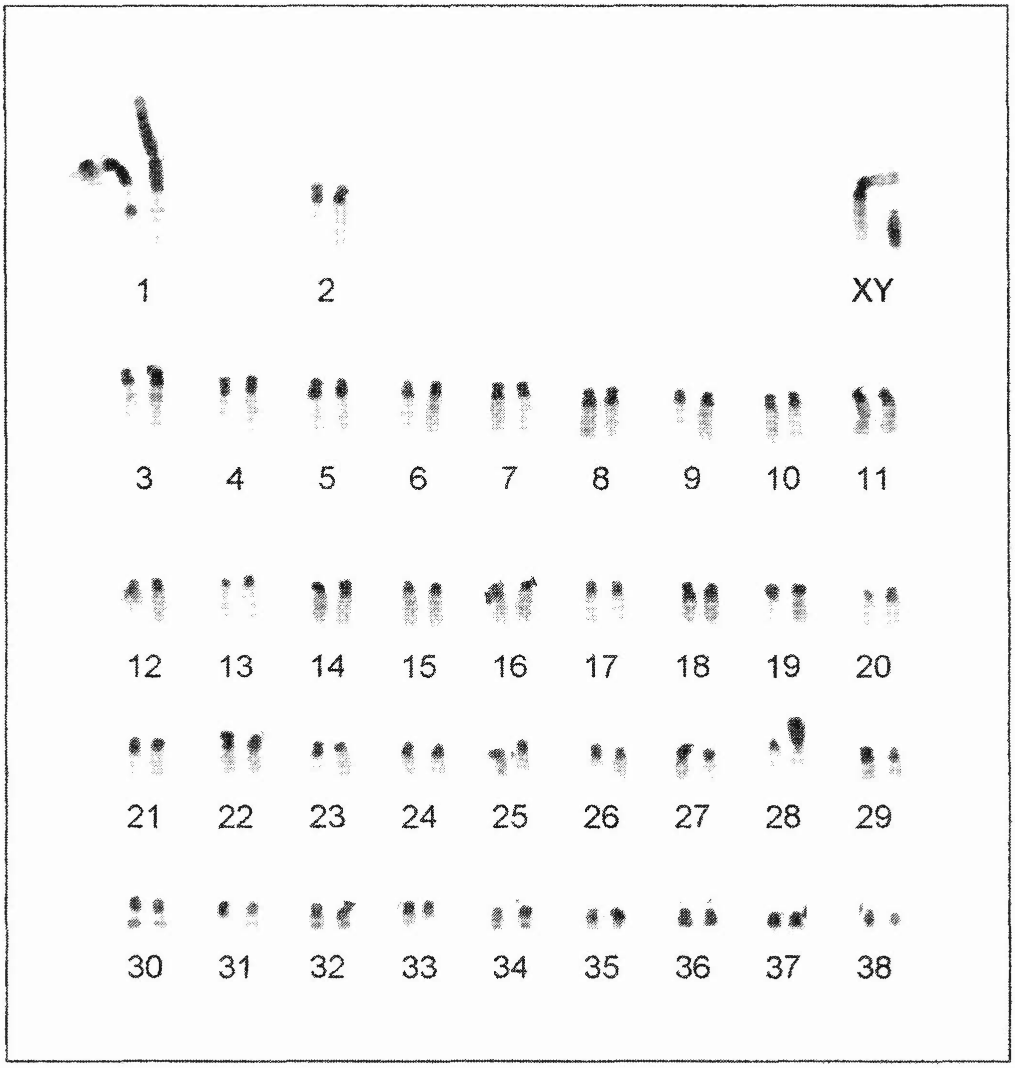

Figura 3. Cariotipo identificado con bandas C de un macho de *A. taczanowskii*. Por definición, las regiones teñidas corresponden a la heterocromatina constitutiva.

34, la variación de tamaño de la región pericentromérica en el cromosoma 1 fue particularmente evidente (alterando también su morfología entre metacéntrico y submetacéntrico); el heteromorfismo de los cromosomas 14 y 28, se refiere a la ausencia o presencia del brazo heterocromático y el de los pares 3, 29, 30, 32 y 34, está relacionado con la ausencia o presencia de la banda sub-terminal o terminal y su variación de tamaño e intensidad. El heteromorfismo del par 19 reviste un especial interés, se trata de la coloración positiva casi total de uno de los homólogos solamente y fue observado en 4 de los animales estudiados.

El heteromorfismo de los cromosomas antes mencionados, observado en los 13 animales con resultados positivos para las bandas C, permite la identificación individual de cada uno de ellos (Tabla 2, Figura 4).

DISCUSIÓN

El cariotipo de *A. taczanowskii* aquí presentado confirma la información de Torres & Enciso (datos no publ.), pero no tiene nada en común con el cariotipo publicado por Gardner (1971) para un individuo de *A. taczanowskii* del Perú. Las diferencias numéricas y estructurales que se aprecian aún sin bandeamiento cromosómico indican que los animales aquí examinados y el estudiado por Gardner (1971) no pueden pertenecer a la misma especie. Esto apoyaría la opinión de Gardner (comunicación personal) de que la poblacion de los Andes de Colombia y Venezuela, actualmente reconocida como la subespecie *A. t. sierrae* Oldfield, en realidad representa una especie distinta de *A. taczanowskii* s. s.

Los cariotipos presentados constituyen un punto de referencia importante para la identificación específica de *A. taczanowskii*. El polimorfismo observado en la pequeña población cautiva puede ser muy útil para los programas de conservación y cría en cautiverio, usado como criterio importante para mantener altos niveles de variación genética.

El espécimen con 77 cromosomas portador de la translocación robertsoniana (8;29) proveniente del medio silvestre puede ser un caso fortuito o puede estar indicando la presencia de un polimorfismo cromosómico en la población natural. De cualquier forma, esto debe ser tomado en cuenta en los programas de cría en cautiverio, puesto que puede presentar problemas de fertilidad y representa un

Tabla 2. Cromosomas heteromórficos de *A. taczanowskii*: variantes encontradas en cada uno de los animales estudiados, ilustradas en la Figura 4.

		Cromosomas Heteromórficos									
Código	**Sexo**	**1***	**3***	**14***	**19***	**26***	**29***	**30***	**32***	**34***	**Y***
A002	XY	dd	bb	aa	aa	aa	bb	aa	aa	bb	a
A003	XY	ac	bb	aa	ac	ac	aa	aa	cc	cc	a
A006	XY	ad	bb	aa	aa	ab	aa	aa	cc	cc	b
A007	XY	aa	bb	aa	ac	ab	aa	aa	cc	cc	a
A008	XY	bb	bb	aa	aa	ad	ab	aa	ab	bb	b
A011	XY	aa	bb	aa	ac	ab	aa	aa	cc	cc	a
A013	XY	cc	bb	aa	aa	ac	bb	aa	bb	bb	a
A014	XX	bd	aa	ab	ab	ab	aa	aa	bb	bb	
A015	XX	cd	bb	aa	aa	ac	aa	aa	bb	bb	
A021	XX	cd	bb	aa	aa	cd	bb	aa	bb	bb	
A028	XX	ac	bb	aa	aa	cc	aa	aa	aa	aa	
A029	XX	dd	bb	aa	aa	aa	bb	aa	cc	cc	
A030	XX	ad	bb	aa	aa	dd	aa	ab	cc	cc	
A010°	XX	cd°	bb		ac°	ac°					

* La denominación de las variantes es arbitraria, se define en la figura 4.

° No tiene bandas C positivas, pero por morfología cromosómica y patrón de bandas Q se infiere, en algunos casos, la variante que posee.

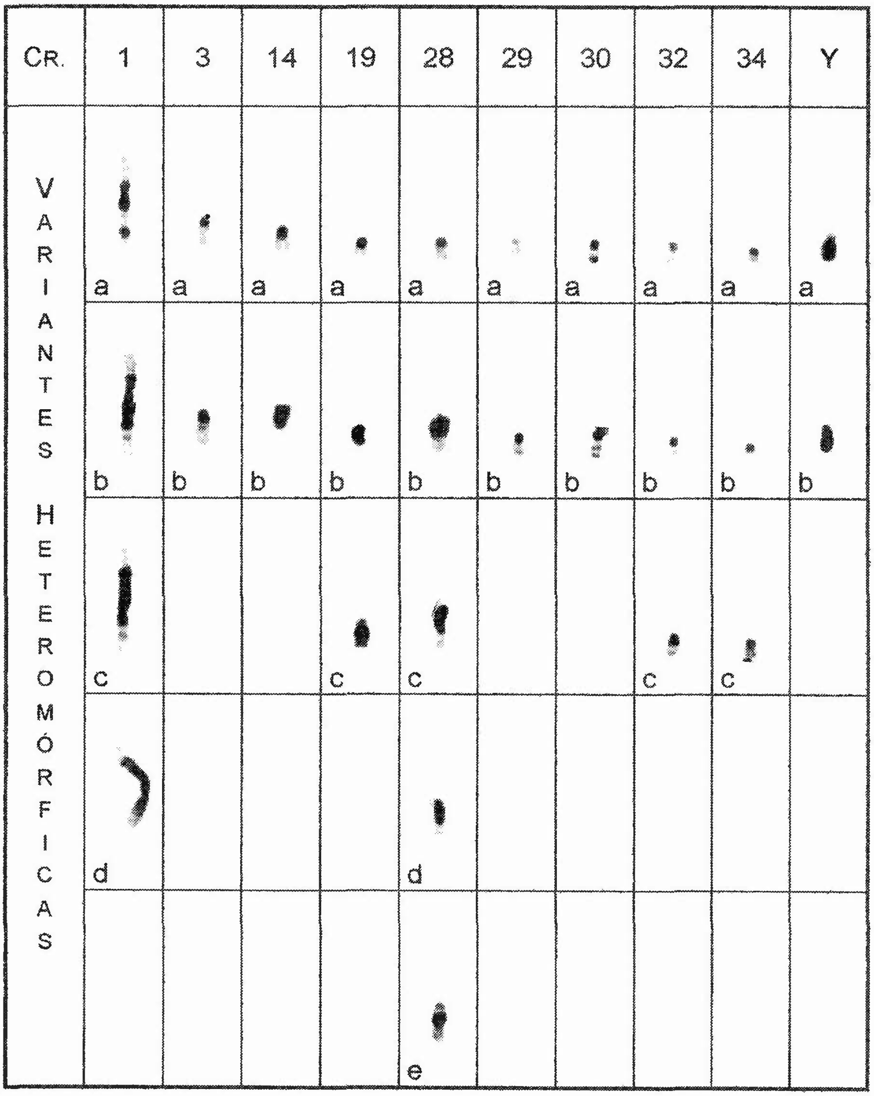

Figura 4. Variantes heteromórficas encontradas en los especímenes estudiados, denominación arbitraria usada en la tabla 2.

riesgo de transmitir anomalías cromosómicas a su descendencia. Por esta razón seria conveniente realizar estudios citogenéticos a los especímenes silvestres tomados como generación parental en tales programas.

El número diploide del tinajo (2n= 78) es mayor que el de *A. paca* (2n = 74) (López et al. 1997). La comparación somera del cariotipo establecido para *A. taczanowskii* (bandas R) con el de *A. paca* muestra diferencias significativas en la estructura del cariotipo, aunque se observa coincidencia en la morfología y patrón de bandas del cromosoma X y en el patrón de bandas de otros pares cromosómicos, pero para establecer sus semejanzas y diferencias se requiere de un análisis minucioso.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al Fondo para la protección del medio ambiente "José Celestino Mutis" Fondo FEN Colombia y a la Universidad Nacional de Colombia por la financiación de la investigación, a Sandra Enciso y Amparo Ruiz por su asistencia técnica excelente y Katherine Martínez por su ayuda en la elaboración y montaje de los cariotipos. Francisco Ruiz, del Instituto Nacional de Salud, nos proporcionó las muestras de sangre de dos de las tinajas. Agradecemos al personal administrativo de Instituto de Genética por su colaboración para el buen desarrollo del trabajo, especialmente a Miriam Calle por su desempeño en el proceso fotográfico requerido.

LITERATURA CITADA

AGUILERA, M., A. PÉREZ-ZAPATA & A. MARTINO. 1995. Cytogenetics and karyosystematics of *Oryzomys albigularis* (Rodentia, Cricetidae) from Venezuela. Cytogenetics and Cell Genetics 69: 44-49.

ARRIGHI, F. & S. HSU. 1971. Localization of heterochromatin in human chromosomes. Cytogenetics 10: 81-86.

BAKER, R., B. KOOP & M. HAIDUK. 1983. Resolving systematic relationships with G- bands: a study of five genera of South American cricetine rodents. Systematic Zoology 32: 403-416.

BRADSHAW, W. & T. HSU. 1972. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae). III. Polymorphism in *Peromyscus maniculatus*. Cytogenetics 11: 436-451.

CAMARGO, M. & J. CERVENKA. 1982. Patterns of DNA replication of human chromosomes. II. Replication map and replication model. American Journal of Human Genetics 34: 757-780.

CASPERSSON, T., L. ZECH & C. JOHANSSON. 1970. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. Experimental Cell Research 60: 315-319.

CONTRAFATTO, G., J. MEESTER, K. WILLAN, P. TAYLOR, M. ROBERTS & C. BAKER. 1992. Genetic variation in the African rodent subfamily Otomtinae (Muridae). II. Chromosomal changes in some populations of *Otomys irraratus*. Cytogenetics and Cell Genetics 59: 293-299.

GARDNER, L. 1971. Karyotypes of two rodents from Peru, with a description of the highest diploid number recorded for a mammal. Experientia 26: 1088-1089.

GOTO, K., T. AKEMATSU, H. SHIMAZU& T. SUGIYAMA. 1975. Simple differential Giemsa staining of sister chromatids after treatment with photosensitive dyes and exposure to light and the mechanism of staining. Chromosoma 53: 223-230.

HUNGERFORD, D. 1965. Leukocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosome by treatment with hipotonic KCl. Stain Technology 40: 333-338.

LÓPEZ, J., M. MÁRQUEZ & D. HOYOS. 1997. Cariotipo citogenético de la guagua (*Agouti paca)*. Revista Facultad de Ciencias Agrarias (Medellín) 50: 5-18.

PATHAK, S., T. HSU & L. SHIRLEY. 1973. Chromosome homology in the elimbing rats, genus *Tylomys* (Rodentia: Cricetidae). Chromosoma 42: 215-228.

SEABRIGHT, M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes. Lancet 2: 971.

SUMNER, A. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Experimental Cell Research 75: 304-306.

WOODS, C. 1993. Suborder Hystricognathi. Págs 781-806 *en*: D. Wilson & D. Reeder (eds.). *Mammal species of the world. A taxonomic and geographic reference.*2nd ed. Smithsonian Institution Press. Washington & Londres.

WYANDT, H., D. WYSHAM, S. MINDEN, R. ANDERSON & F. HECHT. 1976. Mechanisms of Giemsa banding of chromosomes I. Giemsa-11 Banding with Azure and Eosin. Experimental Cell Research 102: 85-94.

YOSIDA, T. & T. SAGAI. 1973. Similarity of Giemsa banding patterns of chromosomes in several species of the genus *Rattus*. Chromosoma 41: 93-101.